

1967

Tierexperimentelle Untersuchungen
über die Wirksamkeit der Kombinationen von
Indometacin/Phenylbutazon und
Indometacin/Prednisolon
im Hyaluronidase-Spreading-Test

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Klaus-Peter Korsch
aus Lauingen-Donau

1967

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154008_0054

**Tierexperimentelle Untersuchungen
über die Wirksamkeit der Kombinationen von
Indometacin/Phenylbutazon und
Indometacin/Prednisolon
im Hyaluronidase-Spreading-Test**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

vorgelegt von

Klaus-Peter Korsch
aus Lauingen-Donau

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Priv.-Doz. Dr. H. Mathies
Co-Referent: Prof. Dr. W. Seitz
Dekan: Prof. Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 14. Februar 1967

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Problematik	4
Eigene Versuche	7
I. Methodik	7
II. Versuchsanordnungen	9
A) Indometacin/Phenylbutazon	9
B) Indometacin/Prednisolon	10
III. Graphische Darstellung und Tabellen	12 15
Statistische Auswertung	22
1. Beschreibende Statistik	22
2. Prüfende Statistik	25
3. Graphische Darstellung und Tabellen	29 35
Diskussion	50
Zusammenfassung	52
Literaturangaben	53

Problematik

Die hyaluronidasehemmende Wirkung wird als Teileffekt des anti-rheumatischen Komplexes diskutiert.

EPPINGER (4), EPSTEIN (5), HOLLMANN (8), MATHIES (18,19), RAT-SCHUW (32), SLAUCK (35) und SCHOEN (33) nehmen eine vermehrte Hyaluronidaseaktivität des Rheumakranken an (s.u.) und diskutieren deren pathogenetische Bedeutung: Die Interzellulärsubstanzen setzen sich zum größten Teil aus Hyaluronsäure (ein Mucopolysaccharid) zusammen. Hier können die Hyaluronidasen, die ein Enzymgemisch darstellen, depolymerisierend und hydrolysierend angreifen. Dadurch wird die Permeabilität des Zwischenzellgewebes gesteigert. Eine vermehrte Hyaluronidaseaktivität vermag dann die Permeabilitätserhöhung (Spreading) bis ins Pathologische zu treiben.

Der von EPPINGER (4) gezeigte permeabilitätssteigernde Effekt des Serums von Rheumakranken am Feuersalamander wurde durch weitere Arbeiten bestätigt (s. ARNOLD (1)).

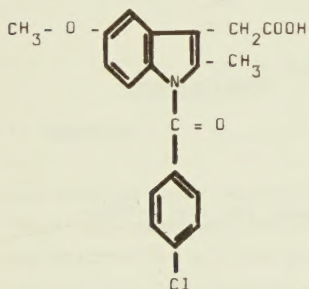
Im Spreadingtest an weißen Ratten hat KROTT (10) gezeigt, daß Rheumatikerserum die Farbstoffausbreitung gegenüber der Wirkung von Normalserum wesentlich beschleunigt.

MATHIES und Mitarbeiter (12,14,15,16,21-28) haben mit der Methode des Spreadingtestes zeigen können, daß antirheumatische Substanzen wie Salicylate, Phenylbutazon, Nebennierenrindenhormone und Moorbäder das Hyaluronidasespreading an intakten Ratten zu hemmen vermögen. Es konnte innerhalb dieser Untersuchungen gezeigt werden, daß bei adrenaletomierten Tieren die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität ausbleibt, während sie nach Hypophysektomie erhalten ist. Nach DOMENJOZ (3), JUNG (9) und MATHIES (15) aktivieren die genannten Substanzen die Nebennierenrinde, ohne

daß dabei eine Hyaluronidasehemmung vorliegt. Untersuchungen von MATHIES und Mitarbeiter (17,24,25) mit Adrenalin und Noradrenalin erhärteten dann die Auffassung, daß eine Nebennierenmarkfunktion vorliegt; da die Catecholamine sowohl bei intakten, als auch bei adrenalektomierten Tieren eine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität zeigten.

Indometacin

Indometacin (Indocin, Indocid, Indomee, Indacin, Amuno) ist ein Nichtsteroid mit der Summenformel $C_{19}H_{16}NO_4Cl$ und einem Molekulargewicht von 357,8. Chemisch ist es eine 1-(p-Chlorobenzoyl)-5-Methoxy-2-Methylindol-3-Essigsäure mit folgender Strukturformel (30):



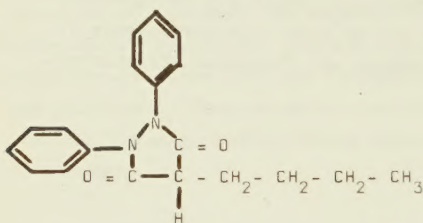
Indometacin

Indometacin ist strukturell von den Glucocorticoiden und Pyrazolonen streng verschieden. Es zeigt pharmakologisch antiphlogistische (Granulombeuteltest, Rattenpfotenödem; WINTER et al. (37)), antipyretische und mild analgesierende Wirkungen. In seiner antiphlogistischen Wirkung ist es anderen Nichtsteroiden, wie z.B. Phenylbutazon, überlegen. Wenn kleine Dosen Indometacin einem Steroid zugegeben wurden, so war der hemmende Effekt auf Granulomwachstum und Carrageenin-induzierte Ödeme stärker als bei Applikation des Steroids allein; umgekehrt wirkte auch

Indometacin stärker, wenn zusätzlich eine niedrige Steroid-Dosis gegeben wurde. Indometacin ist nach Untersuchungen von MATHIES und Mitarbeitern (29) Predniso(lo)n-einsparend.

Phenylbutazon

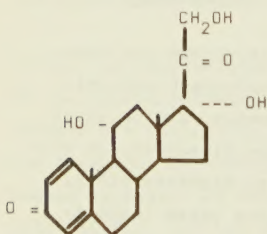
Phenylbutazon (Butazolidin) gehört in die Gruppe der Pyrazole und zeigt neben der antiphlogistischen noch eine analgetische und antipyretische Wirkung. Chemisch ist es 3,5-Dioxy-1,2-diphenyl-4-n-butylpyrazolidin.



Phenylbutazon

Prednisolon

Prednisolon (Δ_1 -Dehydrocortisol, Decortin-H) ist ein synthetisches Nebennierenrindenhormonderivat.



Prednisolon

DOMENJOZ und Mitarbeiter (3) wiesen die antiphlogistischen Eigenschaften der Nebennierenrindenhormone nach; BOSILJANOFF (2)

zeigte eine quantitative Hyaluronidasehemmung im Spreadingtest.

In der vorliegenden Arbeit sollen Kombinationen von Indometacin mit den schon von MATHIES und Mitarbeitern (2,14,22) im Hyaluronidase-Spreading-Test untersuchten Antirheumatica Phenylbutazon bzw. Prednisolon auf ihre Wirkung untersucht werden. Als Versuchsgrundlage diente ebenfalls der Hyaluronidase-Spreading-Test an Ratten.

Zur Diskussion steht eine synergistische Beeinflussung der Schwellendosen der oben genannten Substanzen.

Eigene Versuche

I. Methodik

Die Untersuchungen wurden an männlichen, weißen Ratten durchgeführt. Ihr durchschnittliches Gewicht lag bei etwa 250 g (Streuungsbreite: 180 g - 300 g). Sie wurden für den Versuch mit 0,5 cc pro 100 g Tiergewicht (TGW) einer 5%igen Evipanlösung i.m. narkotisiert. Nach WILHELM (36) besteht kein Einfluß durch Barbiturate auf die Hyaluronidasehemmung.

Anschließend wurde die Bauchhaut der Tiere mit Pilca enthaart. Zur Bestimmung der Hyaluronidaseaktivität wurde der sog. Spreading-Test benutzt, wie ihn MATHIES und Mitarbeiter (12,14,15,16, 21-28) schon bei anderen ähnlichen Fragestellungen angewandt haben. Dazu werden auf die enthaarte Bauchhaut 3 Quaddelpaare in definierter Zeitfolge streng intracutan gesetzt. Die Lokalisationsmöglichkeiten 1 - 6 (s. Skizze) sind im "Lateinischen Qua-

drat" (s. Schema) so angeordnet, daß sie sich innerhalb einer aus 6 Tieren bestehenden Versuchsreihe nicht wiederholen.

2 1

4 3

6 5

Skizze der Lokalisations-
möglichkeiten

Tier Lok.	I	II	III	IV	V	VI
1	FH _{t2}	F _{t1}	F _{t2}	F _V	FH _V	FH _{t1}
2	F _{t1}	F _{t2}	F _V	FH _V	FH _{t1}	FH _{t2}
3	F _{t2}	F _V	FH _V	FH _{t1}	FH _{t2}	F _{t1}
4	F _V	FH _V	FH _{t1}	FH _{t2}	F _{t1}	F _{t2}
5	FH _V	FH _{t1}	FH _{t2}	F _{t1}	F _{t2}	F _V
6	FH _{t1}	FH _{t2}	F _{t1}	F _{t2}	F _V	FH _V

Schema: "Lateinisches Quadrat"

Index V = Vorquaddel

Index t1 bzw. t2 = Quaddel zu festgesetzter Zeit nach
Injektion der Untersuchungssubstanz

F = Farbstoff

FH = Farbstoff-Hyaluronidase-Mischung

Zunächst werden je eine Quaddel mit reiner Farbstofflösung (F_V) bzw. mit einer Farbstoff-Hyaluronidaselösung (FH_V) gesetzt. Nach 10 Minuten wird die Ausbreitung dieser Vorquaddel markiert. Anschließend folgt die i.p. Injektion der Untersuchungssubstanz. Nach vorher festgesetzten Zeiten (t1 und t2) werden dann die 2 weiteren Quaddelpaare gesetzt und wieder jeweils nach 10 Minuten markiert. Die Ausbreitung der Quaddeln erfolgt nach MADINAVEITIA (11) in 2 Phasen, wobei nur während der ersten 10 Minuten ein

sicherer hyaluronidasehemmender Effekt vorliegt; anschließend überwiegen resorptive Prozesse. Die so gewonnenen Farbstofffläschen werden auf Zelluloidkärtchen übertragen und planimetrisch in Quadratmillimeter ausgemessen.

Als reine Farbstofflösung wurde eine 0,06%ige Evansblue-Lösung verwandt. Die Farbstoff-Hyaluronidase-Lösung wurde durch Auflösung einer hochgereinigten Testeshyaluronidase (Kinetin) mit 0,06%igen Evansblue-Lösung gewonnen. Das Kinetin lag in Trockenampullen zu je 150 I.E. vor und wurde pro Ampulle mit 2,0 ccm Evansblue gelöst. Für eine Quaddel wurden jeweils 0,1 ccm Lösung genommen.

Die Testsubstanz war in Tyloseschleim (1%ig) suspendiert und wurde quantitativ dem Körpergewicht entsprechend injiziert. Tyloseschleim verhält sich indifferent bei vorliegender Versuchsanordnung (OSTERBURG (31), ERHARD (6)).

Die Diffusion einer intracutan gesetzten Quaddel ist abhängig von dem Druck, der ihr von der Umgebung entgegengesetzt wird (GIBIAN (7)). Dieser Gewebewiderstand wird durch Hyaluronidase herabgesetzt, was eine Ausbreitung der Quaddel ermöglicht. Wirkt die Testsubstanz hyaluronidasehemmend, so wird dieser Effekt je nach Dosierung mehr oder minder stark eingeschränkt.

II. Versuchsanordnungen

A) Gemisch: Indometacin/Phenylbutazon

Vorbemerkung:

Die Grenzkonzentration, d.h. die Dosis, die gerade keine Hemmung der Hyaluronidaseaktivität im Spreading-Test mehr zeigt, für Indometacin liegt nach SCHÜRNBRAND (34) bei 5,0 mg/kg (Tab. 1). Für Phenylbutazon wurde sie von MATHIES (13) mit 10,0 mg/kg bestimmt.

Versuchsreihen 1 und 2

Es wurden zunächst bei allen 6 Tieren die Farbstoff- und Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddeln gesetzt und ihre Ausbreitung nach 10 Min. markiert. Sie dienen als Vergleichsgrößen.

Danach wurde den Tieren entsprechend ihrem Eigengewicht eine Indometacin/Phenylbutazon-Suspension in Tyloeschleim von einer Konzentration 0,5 + 1,0 mg/ccm/100 g TGW i.p. injiziert. 20 und 40 Min. bzw. 60 und 80 Min. nach dieser Injektion wurden die weiteren Quaddelpaare F_{20} , FH_{20} , F_{40} , FH_{40} bzw. F_{60} , FH_{60} , F_{80} und FH_{80} gesetzt und jeweils nach 10 Min. abgelesen.

Auswertung siehe Tab. 2 und 3 und graph. Darst. I

Versuchsreihen 3 und 4

Hier wurde reines Phenylbutazon in Tyloeschleim verwendet. Konzentration: 2,0 mg/ccm/100 g TGW. Die Quaddeln nach der Injektion wurden wie oben 20/40 Min. bzw. 60/80 Min. später gesetzt.

Auswertung siehe Tab. 4 und 5 und graph. Darst. I

Versuchsreihen 5 und 6

Als Injektions suspension wurde eine Kombination von Indometacin 0,5 mg und Phenylbutazon 2,0 mg pro 1 ccm Tyloeschleim für 100 g TGW verwendet. Quaddelzeiten: 20/40 Min. bzw. 60/80 Min.

Auswertung siehe Tab. 6 und 7 und graph. Darst. I

B) Gemisch: Indometacin/Prednisolon

Vorbemerkung:

Die Grenzkonzentration beträgt nach BOSILJANOFF (2) für Predni-

solon 2,5 mg/kg TGW. Die Substanz wurde hierbei i.v. injiziert.

Bei i.p. Injektion spielen aber noch andere resorptive Vorgänge eine Rolle, die die Wirkungsintensität beeinflussen können. Deshalb wurde mit einer 10-fach höheren Dosierung eine Testreihe durchgeführt, ob sich hierbei ähnliche Verhältnisse ergeben würden.

Versuchsreihen 7, 8 und 9

Es wurde auch hier mit der beschriebenen Versuchsanordnung gearbeitet.

Die Prednisolonlösung wurde in einer Konzentration von 2,5 mg Prednisolon pro 1 ccm 0,9%igen NaCl pro 100 g TGW i.p. injiziert. Versuchszeiten: 5/10 Min., 20/40 Min. und 60/80 Min.

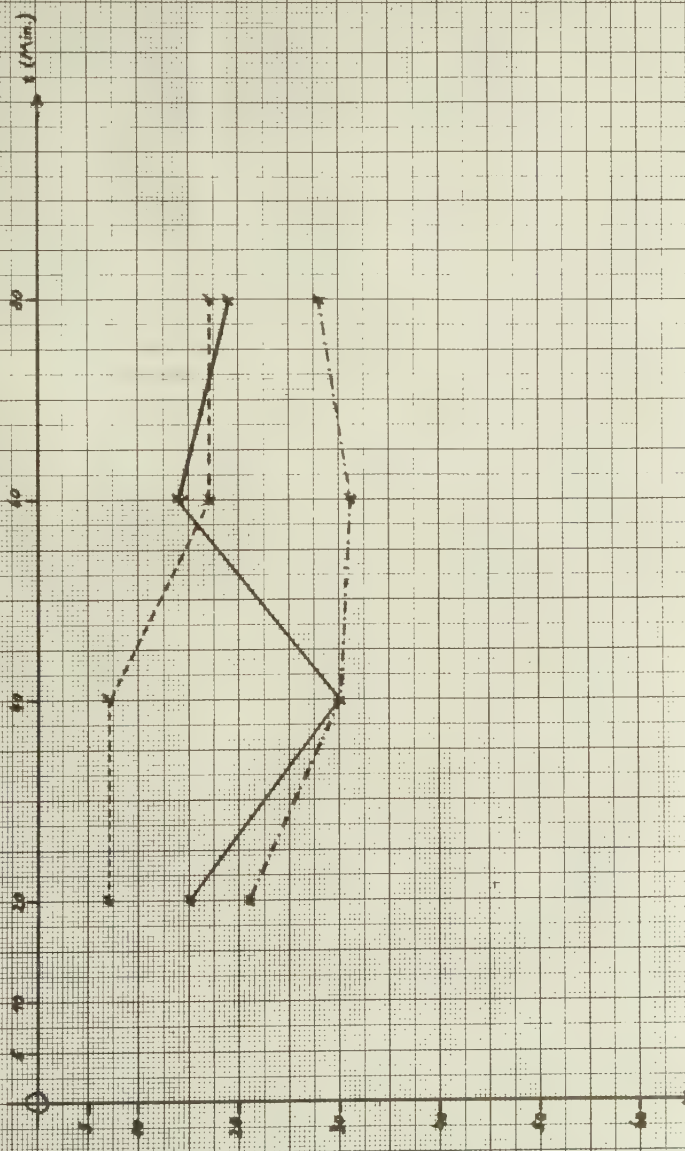
Auswertung siehe Tab. 8, 9 und 10 und graph. Darst. II

Versuchsreihen 10, 11 und 12

Hier wurde eine Konzentration von Indometacin 0,5 mg und Prednisolon 2,5 mg pro 1 ccm Tylozeschleim für 100 g TGW verwendet. Versuchszeiten: 5/10 Min., 20/40 Min. und 60/80 Min.

Auswertung siehe Tab. 11, 12 und 13 und graph. Darst. II

III. Graphische Darstellung
und
Tabellen



Graphische Darstellung I

- ■ Phenylbutazon 20 mg/kg
- - - ■ Indometacin 5 mg/kg
- · - · ■ Phenylbutazon 10 mg/kg
- · · · ■ Indometacin 5 mg/kg
- · · · ■ Phenylbutazon 20 mg/kg

Heimung
Mittelwert-Differenz
(qmm)

Hemmung
Mittelwert-Differenz
(qmm)

Graphische Darstellung II

— * Prednisolon 25 mg/kg
- - - * Indometacin 5 mg/kg
Prednisolon 25 mg/kg

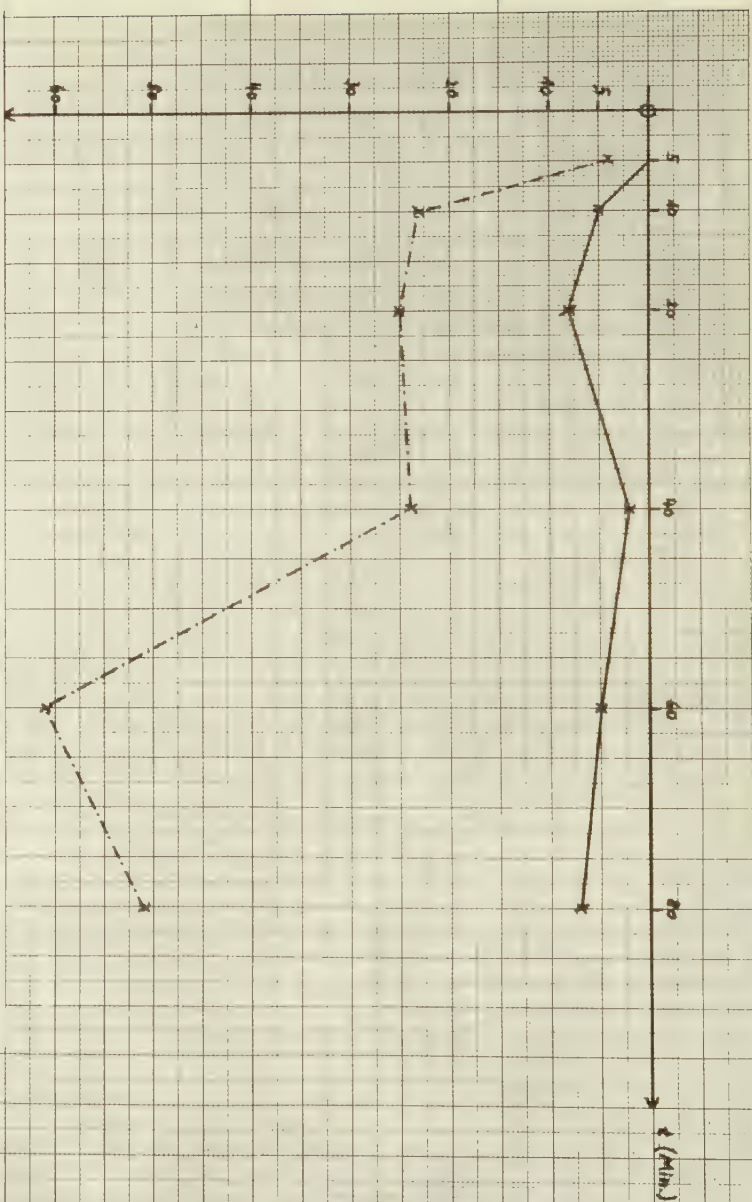


Tabelle 1: Hyaluronidasehemmung durch Indometacin i.p. an der Ratte (nach SCHÜRNBRAND (34))

Zeit (Min.)	Dosis mg/kg	Farbstoff-Quaddel			Farbstoff + Hyase-Quaddel		
		F _v qmm	F _t qmm	Diff. qmm	F _v qmm	F _t qmm	Diff. qmm
5	100,0	129	126	- 3	219	210	- 9
10	"	129	129	0	219	198	- 21
20	"	130	129	- 1	223	206	- 17
40	"	130	127	- 3	223	198	- 25
60	"	137	136	- 1	235	192	- 43
80	"	137	133	- 4	235	192	- 43
100	"	135	130	- 5	232	194	- 38
120	"	135	127	- 8	232	185	- 47
5	10,0	115	116	+ 1	226	213	- 13
10	"	115	115	0	226	210	- 16
20	"	122	121	- 1	205	186	- 19
40	"	122	118	- 4	205	183	- 22
60	"	124	121	- 3	221	194	- 27
80	"	124	119	- 5	221	181	- 30
100	"	124	117	- 7	232	186	- 46
120	"	124	119	- 5	232	183	- 49
5	7,5	126	124	- 2	221	219	- 2
10	"	126	124	- 2	221	215	- 6
20	"	127	123	- 4	225	211	- 14
40	"	127	116	- 9	225	201	- 24
60	"	128	128	0	250	222	- 28
80	"	128	126	- 2	250	215	- 35
100	"	122	117	- 5	216	190	- 26
120	"	122	117	- 5	216	185	- 31
20	5,0	134	133	- 1	241	235	- 6
40	"	134	130	- 4	241	238	- 3
60	"	131	127	- 4	234	231	- 3
80	"	131	125	- 6	234	231	- 3
100	"	132	125	- 7	208	213	+ 5
120	"	132	126	- 6	208	210	+ 2
20	1,0	117	113	- 4	222	225	+ 3
40	"	117	120	+ 3	222	216	- 6
60	"	133	126	- 7	237	232	- 5
80	"	133	129	- 4	237	233	- 4
100	"	130	129	- 1	224	220	- 4
120	"	130	123	- 7	224	220	- 4

Tabelle 2: Indometacin 5,0 mg/kg Zeit: 20/40 Min.
Phenylbutazon 10,0 mg/kg

Tier	Gewicht	F _V	F ₂₀	F ₄₀	FH _V	FH ₂₀	FH ₄₀
I	260 g	129	140	135	212	212	238
II	270 g	132	135	132	221	205	190
III	250 g	130	128	126	255	230	262
IV	220 g	125	125	118	225	222	205
V	350 g	120	116	115	240	234	215
VI	400 g	125	124	122	222	228	220
Summe	1750 g	761	768	748	1375	1331	1330
Mittelwert	292 g	127	128	125	229	222	222
Differenz		+ 1	- 2		- 7	- 7	

Tabelle 3: Indometacin 5,0 mg/kg Zeit: 60/80 Min.
Phenylbutazon 10,0 mg/kg

Tier	Gewicht	F _V	F ₆₀	F ₈₀	FH _V	FH ₆₀	FH ₈₀
I	250 g	122	129	120	231	220	229
II	280 g	130	116	119	219	190	180
III	250 g	120	129	120	218	222	205
IV	240 g	118	119	118	235	216	222
V	280 g	121	125	120	215	195	195
VI	250 g	135	132	130	225	200	210
Summe	1550 g	746	750	727	1343	1243	1241
Mittelwert	258 g	124	125	121	224	207	207
Differenz		+ 1	- 3		- 17	- 17	

Tabelle 4: Phenylbutazon 20,0 mg/kg

Zeit: 20/40 Min.

Tier	Gewicht	F _V	F ₂₀	F ₄₀	FH _V	FH ₂₀	FH ₄₀
I	220 g	132	119	118	235	240	190
II	220 g	138	135	138	245	230	225
III	280 g	138	120	135	228	212	212
IV	230 g	130	130	135	270	245	228
V	290 g	126	120	123	238	226	230
VI	200 g	128	120	120	250	220	200
Summe	1440 g	792	744	769	1466	1373	1285
Mittelwert	240 g	132	124	128	244	229	214
Differenz		- 8	- 4		- 15	- 30	

Tabelle 5: Phenylbutazon 20,0 mg/kg

Zeit: 60/80 Min.

Tier	Gewicht	F _V	F ₆₀	F ₈₀	FH _V	FH ₆₀	FH ₈₀
I	190 g	127	126	120	249	235	251
II	220 g	140	135	130	230	220	226
III	250 g	120	130	140	255	222	222
IV	280 g	150	130	130	220	208	190
V	220 g	130	121	128	212	215	200
VI	250 g	135	129	130	249	230	215
Summe	1410 g	802	771	778	1415	1330	1304
Mittelwert	235 g	134	129	129	236	222	217
Differenz		- 5	- 5		- 14	-19	

Tabelle 6: Indometacin 5,0 mg/kg Zeit: 20/40 Min.
Phenylbutazon 20,0 mg/kg

Tier	Gewicht	F _V	F ₂₀	F ₄₀	FH _V	FH ₂₀	FH ₄₀
I	230 g	132	125	120	255	240	235
II	270 g	119	118	120	255	250	210
III	260 g	125	115	120	239	208	220
IV	280 g	132	122	120	250	215	198
V	300 g	110	110	115	230	215	200
VI	270 g	136	123	130	233	210	220
Summe	1610 g	754	713	725	1462	1338	1283
Mittelwert	268 g	126	119	121	244	223	214
Differenz		- 7	- 5		- 21	- 30	

Tabelle 7: Indometacin 5,0 mg/kg Zeit: 60/80 Min.
Phenylbutazon 20,0 mg/kg

Tier	Gewicht	F _V	F ₆₀	F ₈₀	FH _V	FH ₆₀	FH ₈₀
I	220 g	120	111	108	235	191	190
II	250 g	120	116	112	210	180	200
III	230 g	112	120	110	240	190	220
IV	230 g	138	134	126	195	180	190
V	250 g	135	129	122	220	235	210
VI	260 g	130	115	108	252	190	180
Summe	1440 g	755	725	686	1352	1166	1190
Mittelwert	223 g	126	121	113	225	194	197
Differenz		- 5	- 13		- 31	- 28	

Tabelle 8: Prednisolon 25,0 mg/kg Zeit: 5/10 Min.

Tier	Gewicht	F _V	F ₅	F ₁₀	FH _V	FH ₅	FH ₁₀
I	200 g	138	135	132	215	210	198
II	210 g	135	128	120	198	198	198
III	200 g	118	128	122	205	204	198
IV	200 g	130	132	128	200	208	210
V	210 g	122	110	121	211	200	201
VI	240 g	119	112	112	210	221	209
Summe	1260 g	762	745	735	1239	1241	1214
Mittelwert	210 g	127	124	123	207	207	202
Differenz		- 3	- 4		+ 0	- 5	

Tabelle 9: Prednisolon 25,0 mg/kg Zeit: 20/40 Min.

Tier	Gewicht	F _V	F ₂₀	F ₄₀	FH _V	FH ₂₀	FH ₄₀
I	230 g	111	128	110	218	172	190
II	300 g	122	125	120	189	175	189
III	240 g	120	125	128	228	228	232
IV	200 g	115	113	119	222	222	210
V	230 g	110	110	108	190	192	210
VI	190 g	120	120	110	182	192	188
Summe	1390 g	708	721	695	1229	1181	1219
Mittelwert	232 g	118	120	116	205	197	203
Differenz		+ 2	- 2		- 8	- 2	

Tabelle 10: Prednisolon

25,0 mg/kg

Zeit: 60/80 Min.

Tier	Gewicht	F _V	F ₆₀	F ₈₀	FH _V	FH ₆₀	FH ₈₀
I	180 g	129	124	129	245	235	234
II	190 g	130	131	129	230	229	229
III	200 g	126	125	130	228	212	230
IV	190 g	131	141	126	221	222	210
V	210 g	140	130	140	220	215	225
VI	180 g	128	130	126	225	225	200
Summe	1150 g	784	781	780	1369	1338	1328
Mittelwert	192 g	131	130	130	228	223	221
Differenz		- 1	- 1		- 5	- 7	

Tabelle 11: Indometacin

5,0 mg/kg

Zeit: 5/10 Min.

Prednisolon

25,0 mg/kg

Tier	Gewicht	F _V	F ₅	F ₁₀	FH _V	FH ₅	FH ₁₀
I	200 g	131	128	132	220	222	198
II	260 g	132	120	125	188	190	162
III	290 g	112	115	110	219	202	209
IV	280 g	130	120	120	200	205	165
V	280 g	110	110	120	235	215	200
VI	270 g	128	125	116	209	216	198
Summe	1580 g	743	718	713	1271	1250	1132
Mittelwert	263 g	124	120	119	212	208	189
Differenz		- 4	- 5		- 4	- 23	

Tabelle 12: Indometacin 5,0 mg/kg Zeit: 20/40 Min.
Prednisolon 25,0 mg/kg

Tier	Gewicht	F _V	F ₂₀	F ₄₀	FH _V	FH ₂₀	FH ₄₀
I	180 g	120	128	128	233	188	215
II	240 g	115	108	110	182	184	175
III	230 g	120	100	120	223	198	208
IV	180 g	120	120	120	230	215	200
V	220 g	128	118	128	216	184	192
VI	220 g	111	112	113	232	195	180
Summe	1270 g	714	686	719	1316	1164	1170
Mittelwert	212 g	119	114	120	219	194	195
Differenz		- 5	+ 1		- 25	- 24	

Tabelle 13: Indometacin 5,0 mg/kg Zeit: 60/80 Min.
Prednisolon 25,0 mg/kg

Tier	Gewicht	F _V	F ₆₀	F ₈₀	FH _V	FH ₆₀	FH ₈₀
I	250 g	140	138	135	255	182	200
II	210 g	155	158	142	242	222	242
III	250 g	135	142	142	268	192	204
IV	260 g	148	142	140	242	180	202
V	270 g	122	132	130	252	200	190
VI	310 g	128	120	128	260	200	195
Summe	1550 g	828	832	817	1539	1176	1233
Mittelwert	258 g	138	139	136	257	196	206
Differenz		+ 1	- 2		- 61	- 51	

Statistische Auswertung

1. Beschreibende Statistik

Um die Heterogenität zwischen den Versuchstieren hinsichtlich ihrer Ausgangswerte auszuschalten, wurde für die statistische Bewertung der Prüfungsergebnisse für jedes Versuchstier die individuelle Abweichung nach Applikation eines Verfahrens gegenüber dem zugehörigen Ausgangswert herangezogen (Abweichungen vom Ausgangswert).

In einigen Versuchsanordnungen liegen zwischen den verschiedenen Versuchsreihen statistisch faßbare Unterschiede hinsichtlich der Ausgangslagen vor. Inwieweit hierdurch eine Verzerrung des Prüfungsergebnisses bewirkt wird, konnte auf der Grundlage der kleinen Stichproben nicht beurteilt werden: es muß jedoch zumindest vermutet werden, daß hierdurch die Heterogenität in der Reaktion der Versuchstiere vergrößert worden ist.

In den graphischen Darstellungen III - VII haben wir für jede Versuchsanordnung die beobachteten mittleren Abweichungen gegenüber dem Ausgangswert für die reine Farbstoff-Quaddel und für die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel die quadratische Regression eingezeichnet, die wir ab der Beobachtungszeit 20' in jeder Versuchsanordnung berechnet haben. Mit diesen quadratischen Regressionen sollten deskriptiv zwei Fragen geklärt werden:

1. Zunächst sollte durch die quadratischen Regressionen dargestellt werden, inwieweit zwischen den verschiedenen Beobachtungszeitpunkten ein systematischer Verlauf der Abweichungen der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vorliegt. Die statistische Überprüfung dieses Sachverhaltes ergibt, daß dies für alle Versuchsanordnungen, mit der einzigen Ausnahme der Versuchsanordnung Reihe 10 - 12, zutrifft. Abgesehen von dieser Ausnahme zeigt sich somit in allen Versuchsanordnungen ein syste-

matischer Trend im Verhalten der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel, zumindest ab dem Zeitpunkt 20'.

2. Mit Hilfe der quadratischen Regressionen sollte als einfacher Parameter zur Charakterisierung des gesamten Versuchsablaufes das sog. "Wirkungs-Integral J" für jede einzelne Versuchsanordnung berechnet werden. Dieses Wirkungs-Integral ist als die Fläche zwischen der quadratischen Regression und der Null-Linie definiert. Wir haben sie in jeder Versuchsanordnung für die Zeitabschnitte zwischen 20' und 80' berechnet. Prinzipiell vernachlässigt wurden bei der Berechnung der Wirkungs-Integrale die Zeitpunkte 5' und 10', soweit sie in den Versuchsanordnungen beobachtet worden sind.

In den mit "Abweichungen von den Ausgangswerten" gekennzeichneten Tabellen (Tabb: 15,18,21,24,27), haben wir das Verhalten der Farbstoff-Quaddel dargestellt. Für jeden Zeitpunkt ist hier das arithmetische Mittel der beobachteten Abweichungen sowie der zugehörige simultane 95%-Konfidenzbereich angegeben. Innerhalb einer Versuchsanordnung kann für alle arithmetischen Mittel, deren Konfidenzbereich den Wert Null nicht enthält, behauptet werden, daß es sich hierbei um eine statistisch gesicherte Veränderung des Spreadings der reinen Farbstoff-Quaddel zu dem betreffenden Zeitpunkt handelt. Die Gesamtaussage für eine Versuchsanordnung ist dabei mit einer maximalen Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% behaftet. Berücksichtigt man die Größe dieser Konfidenzbereiche, so ergibt sich, daß in keiner der Versuchsanordnungen eine statistisch faßbare, systematische Veränderung der reinen Farbstoff-Quaddel vorliegt. Bei der Interpretation dieses Ergebnisses ist jedoch zu bedenken, daß die Variabilität in der Reaktion der Tiere teilweise sehr hoch ist, was sich in der Größe der Konfidenzbereiche manifestiert.

In den mit "Abweichungen vom Ausgangswert" gekennzeichneten Tabellen (Tabb: 16,19,22,25,28), wurde das Ergebnis der statistischen Bewertung des Verhaltens der Farbstoff-Hyaluronidase-Quad-

del dargestellt. Auch hier wurde für jeden Beobachtungszeitpunkt die mittlere Abweichung und der zugehörige simultane 95%-Konfidenzbereich angegeben. Die Interpretation dieser statistischen Parameter entspricht derjenigen, die bereits oben für das Verhalten der reinen Farbstoff-Quaddel erläutert wurde. Aus der Größe dieser Konfidenzbereiche ergibt sich, daß eine statistisch faßbare Hemmung des Spreadings der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel nur in den Versuchsanordnungen 3 und 4, 5 und 6, 10 bis 12 vorliegt. In den restlichen Versuchsanordnungen können die beobachteten Abweichungen im Spreading der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel noch durchaus zufallsbedingt sein.

Eine statistisch faßbare Abhängigkeit der Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings von der Beobachtungszeit liegt nur in der Versuchsanordnung 10 bis 12 vor. In allen anderen Versuchsanordnungen kann auf Grund der statistischen Tests angenommen werden, daß die Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings nicht wesentlich vom Zeitpunkt der Beobachtung abhängt. Auch hier gilt allerdings die bereits oben zum Verhalten der reinen Farbstoff-Quaddel gemachte Bemerkung, daß die Trennschärfe dieser statistischen Aussage wegen der starken Heterogenität in der Reaktion der Tiere sehr beschränkt ist.

In der mit Phenylbutazon durchgeführten Versuchsanordnung zeigt sich nur zum Zeitpunkt 40' eine statistisch faßbare Hemmung des Spreadings der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel.

In der mit Prednisolon durchgeführten Versuchsanordnung läßt sich zu keinem der Beobachtungszeitpunkte eine statistisch faßbare Hemmung des Spreadings der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel behaupten.

Die Kombination von Indometacin 5,0 mg/kg und Phenylbutazon 10,0 mg/kg liefert ebenfalls zu keinem Beobachtungszeitpunkt eine statistisch gesicherte Hemmung des Spreadings der Farbstoff-Hyaluro-

nidase-Quaddel. Die Kombination von Indometacin 5,0 mg/kg und Phenylbutazon 20,0 mg/kg dagegen liefert zu den Zeitpunkten 40' und 60' eine statistisch gesicherte Hemmung des Spreadings der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel. Das zugehörige Wirkungs-Integral liegt dabei über demjenigen der alleinigen Applikation von Phenylbutazon 20,0 mg/kg, was primär wohl durch die etwas längere Wirkungsdauer der Kombination gegenüber der alleinigen Applikation von Phenylbutazon zurückzuführen sein dürfte.

Für die Kombination Indometacin 5,0 mg/kg und Prednisolon 25,0 mg/kg zeigt sich ab dem Zeitpunkt 10' nach Applikation eine statistisch gesicherte Hemmung des Spreadings der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel. Für die Beurteilung dieses Ergebnisses erscheint wesentlich, daß die beiden Komponenten dieser Kombination in den Versuchsanordnungen, in denen sie einzeln geprüft wurden, keinerlei statistisch faßbare Veränderungen des Spreadings bewirkt haben.

2. Prüfende Statistik

Prüfung der Ausgangslagen

1. Prüffrage: Innerhalb der gleichen Versuchsanordnung liegen zwischen den Versuchsreihen keine Unterschiede in den Verteilungen der Ausgangswerte vor.

Test-Verfahren: BARTLETT-Test und einfache Varianz-Analyse.

Test-Ergebnis: s. die Zusammenstellungen in den jeweiligen Tabellen (Tabb: 14,17,20,23,26).

Formale Konsequenz: Hinsichtlich der Varianzen liegen in keiner der Versuchsanordnungen Unterschiede zwischen den zugehörigen Versuchsreihen vor. Für die F-Quaddeln und ebenso für die FM-Quaddeln liegen hinsichtlich der arithme-

tischen Mittel in den Versuchsanordnungen 7 bis 9 und 10 bis 12 statistisch relevante Unterschiede zwischen den zugehörigen Versuchsreihen vor. Für welche Versuchsreihen speziell diese Unterschiede zutreffen, ergibt sich aus den arithmetischen Mitteln und den zugehörigen minimalen Mittelwertsdifferenzen.

Im Hinblick auf die kleinen Stichproben-Umfänge je Versuchsreihe ist es nicht möglich mit statistischen Mitteln zu beurteilen, inwieweit Unterschiede in den Ausgangslagen das Versuchsergebnis beeinflussen bzw. verfälschen.

Verhalten der Farbstoff-Quaddel während des Versuches

2. Prüffrage: Innerhalb der gleichen Versuchsanordnung liegen zwischen den verschiedenen Beobachtungszeitpunkten keine Verteilungsunterschiede für die Abweichungen der F-Quaddel von ihrem jeweiligen Ausgangswert vor.
- Test-Verfahren: BARTLETT-Test und einfache Varianz-Analyse.
- Test-Ergebnis: s. die Zusammenstellungen in den jeweiligen Tabellen (Tabb: 15,18,21,24,27).
- Formale Konsequenz: Hinsichtlich der Varianzen liegen in keiner Versuchsanordnung Unterschiede zwischen den Beobachtungszeitpunkten vor.
- Hinsichtlich der arithmetischen Mittel zeigen sich in keiner Versuchsanordnung Unterschiede zwischen den einzelnen Beobachtungszeitpunkten. Sie können demnach während der gesamten Versuchsdauer als praktisch konstant angesehen werden. Die Größe der simultanen 95%-Konfidenzbereiche zeigt außerdem, daß in keiner Versuchsanordnung eine wesentliche Abweichung der F-Quaddel vom Ausgangswert vor-

liegt.

Insgesamt läßt sich somit kein statistisch faßbarer systematischer Einfluß einer Versuchsanordnung auf das Verhalten der F-Quaddel feststellen.

Verhalten der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel während des Versuchs

3. Prüffrage: Innerhalb der gleichen Versuchsanordnungen liegen zwischen den verschiedenen Beobachtungszeitpunkten keine Verteilungsunterschiede für die Abweichungen der FH-Quaddel von ihrem jeweiligen Ausgangswert vor.
- Test-Verfahren: BARTLETT-Test und kombinierte Varianz- und Regressions-Analyse.
- Test-Ergebnis: s. die Zusammenstellungen in den jeweiligen Tabellen (Tabb: 16,19,22,25,28).
- Formale Konsequenz: Hinsichtlich der Varianzen liegen in keiner der Versuchsanordnungen zwischen den verschiedenen Beobachtungszeitpunkten statistisch faßbare Unterschiede vor.
- Hinsichtlich der arithmetischen Mittel ergeben sich nur in der Versuchsanordnung 10 bis 12 statistisch faßbare Unterschiede zwischen den verschiedenen Beobachtungszeitpunkten; in allen anderen Versuchsanordnungen können die Abweichungen der FH-Quaddel als praktisch konstant angesehen werden. Bei dieser Aussage ist allerdings die teilweise extrem hohe Variabilität in der Reaktion der Tiere zu berücksichtigen (s. die Konfidenzbereiche), welche die Trennschärfe der statistischen Tests stark reduziert.
- Unter Berücksichtigung der simultanen Konfidenzbereiche ergibt sich, daß in den Versuchs-

anordnungen 1 und 2 und 7 bis 9 die beobachteten Abweichungen der FH-Quaddel noch zufällig bedingt sein können, statistisch läßt sich diese Möglichkeit jedenfalls nicht ausschließen. In allen anderen Versuchsanordnungen, d.h. in den Anordnungen 3 und 4, 5 und 6, 10 bis 12, liegen statistisch faßbare Hemmungen des Hyaluronidase-Spreadings vor.

Die in der Regressions-Analyse durchgeführte Anpassung einer quadratischen Regression der Abweichungen nach der Beobachtungszeit ist für alle Versuchsanordnungen, mit Ausnahme der Anordnung 10 bis 12, zulässig (s. Varianz-Komponente "Restabweichung"). Die Berücksichtigung der zeitlichen Reihenfolge der Beobachtungen in der Regressions-Analyse führt jedoch zu keinen wesentlich anderen Ergebnissen, als die gewöhnliche Varianz-Analyse.

Hinsichtlich der Versuchsanordnung 10 bis 12 sei bemerkt, daß hier die Anpassung einer Regression im wesentlichen an der Übereinstimmung der Werte zu den Zeitpunkten 20' und 40' einerseits und dem späteren starken Abfall zu den Zeitpunkten 60' und 80' andererseits scheitert. Inwieweit hier die Tatsache eine Rolle spielt, daß es sich um verschiedene Tiergruppen handelt, kann nicht entschieden werden.

Zu den Wirkungs-Integralen sei noch bemerkt, daß sie naturgemäß nur als grobe Näherungen anzusehen sind, was bereits in der Größe ihrer 95%-Konfidenzbereiche zum Ausdruck kommt. Sie sind primär als zusammenfassende, beschreibende Parameter gedacht; formal statistisch kommt ihnen praktisch keine Bedeutung zu.

3. Graphische Darstellung und Tabellen

Erläuterung zu den Tabellen

Tabellen 14, 17, 20, 23, 26:

Zusätzlich zu den arithmetischen Mitteln ist die kleinste, statistisch wesentliche Differenz zwischen zwei arithmetischen Mitteln angegeben (nach TUKEY); wobei ein Test-Niveau von 5% festgesetzt wurde. Es handelt sich hier also nicht um die Konfidenzbereiche.

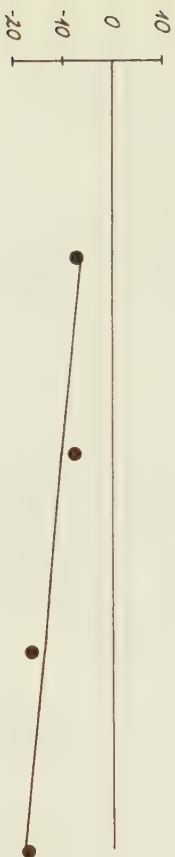
Tabellen 15, 16, 18, 19, 21, 22, 24, 25, 27, 28:

Zusätzlich zu den arithmetischen Mitteln ist ihr simultaner 95%-Konfidenzbereich angegeben. Behauptet man für alle arithmetischen Mittel, deren Konfidenzbereich den Wert Null nicht umfaßt, daß sie real von Null verschieden sind, so ist diese Gesamtaussage mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von maximal 5% behaftet.

F-Quaddel



FH-Quaddel



Graphische Darstellung III

Abweichungen von den Ausgangswerten
 Indometacin 5,0 mg/kg und
 Phenylbutazon 10,0 mg/kg



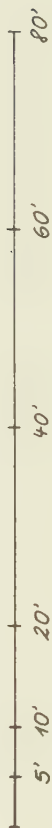
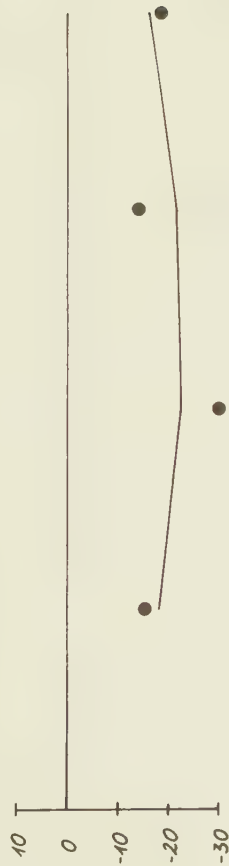
F-Quaddel

Graphische Darstellung IV

Abweichungen von den Ausgangswerten
Phenylobutazon 20,0 mg/kg



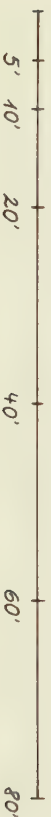
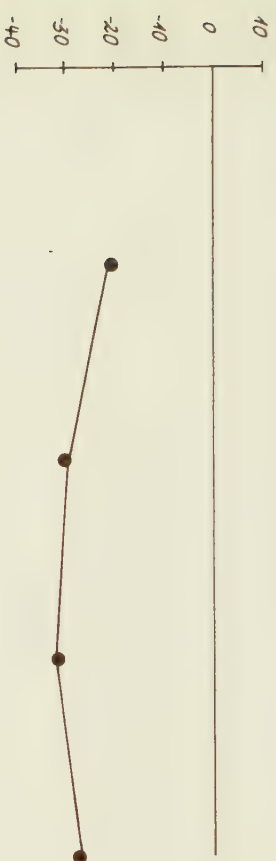
FH-Quaddel



F-Quaddel



FH-Quaddel



Graphische Darstellung V

Abweichungen von den Ausgangswerten
Indometacin 5,0 mg/kg und
Phenylbutazon 20,0 mg/kg

F-Quaddel

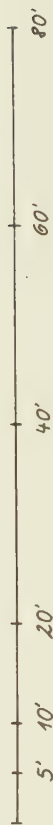


FH-Quaddel



Graphische Darstellung VI

Abweichungen von den Ausgangswerten
Prednisolon 25,0 mg/kg



F-Quaddel



Graphische Darstellung VII
Abweichungen von den Ausgangswerten
Indometacin 5,0 mg/kg und
Prednisolon 25,0 mg/kg

FH-Quaddel



Tabelle 14: Vergleich der Ausgangslagen von

Indometacin 5,0 mg/kg und Phenylbutazon 10,0 mg/kg

1. Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	1	18,75	18,75	-
Innerhalb Versuchsreihen	10	316,16	31,62	
Gesamt-Varianz	11	334,91	30,45	

BARTLETT-Test: $n = 1$; $\chi^2 = 1,046$

$s_{\bar{x}} = 2,2955$, $s_g = 1,6232$

2. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	1	85,33	85,33	-
Innerhalb Versuchsreihen	10	1.527,66	152,77	
Gesamt-Varianz	11	1.612,99	146,64	

BARTLETT-Test: $n = 1$; $\chi^2 = 2,572$

$s_{\bar{x}} = 5,0459$, $s_g = 3,5680$

3. Arithmetische Mittel

V-Reihe	$\bar{x}$ (F)	$\bar{x}$ (FH)
20'/40'	126,8 $\pm$ 7,2	229,2 $\pm$ 15,9
60'/80'	124,3 $\pm$ 7,2	223,8 $\pm$ 15,9
Gesamt	125,6 $\pm$ 3,6	226,5 $\pm$ 5,7

Tabelle 15: Abweichungen von den Ausgangswerten

Indometacin 5,0 mg/kg und Phenylbutazon 10,0 mg/kg

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Zeiten	3	80,79	26,93	-
Innerhalb Zeiten	20	689,82	34,49	
Gesamt-Varianz	23	770,62	33,51	

$$s_x = 2,3976$$

$$\text{BARTLETT-Test: } n = 3; \chi^2 = 3,616$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (F)
20'	1,17 $\pm$ 6,35
40'	- 2,17 $\pm$ 6,35
60'	0,67 $\pm$ 6,35
80'	- 3,17 $\pm$ 6,35

Tabelle 16: Abweichungen vom Ausgangswert

Indometacin 5,0 mg/kg und Phenylbutazon 10,0 mg/kg

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Quadratische Regression	2	437,05	218,53	-
Rest-Abweichung	1	95,41	95,41	-
Innerhalb Zeiten	20	4.468,16	223,41	
Gesamt-Varianz	23	5.000,62	217,42	

$$s_x^2 = 7,4734$$

BARTLETT-Test: $n = 3$; $x^2 = 4,000$.

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (FH)
20'	- 7,33 $\pm$ 19,80
40'	- 7,50 $\pm$ 19,80
60'	- 16,67 $\pm$ 19,80
80'	- 17,00 $\pm$ 19,80

Wirkungs-Integral

$$J (20' - 80') = - 36,31 \pm 21,35$$

Tabelle 17: Vergleich der Ausgangslagen von
Phenylbutazon 20,0 mg/kg

1. Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	1	8,33	8,33	-
Innerhalb Versuchsreihen	10	681,33	68,13	
Gesamt-Varianz	11	689,66	62,70	

BARTLETT-Test: $n = 1$; $\chi^2 = 2,965$

$s_{\bar{x}} = 3,3698$, $s_g = 2,3828$

2. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	1	216,75	216,75	-
Innerhalb Versuchsreihen	10	2.652,16	265,22	
Gesamt-Varianz	11	2.868,91	260,81	

BARTLETT-Test: $n = 1$; $\chi^2 = 0,201$

$s_{\bar{x}} = 6,6485$, $s_g = 4,7012$

3. Arithmetische Mittel

V-Reihe	$\bar{x}$ (F)	$\bar{x}$ (FH)
20'/40'	132,0 $\pm$ 10,6	244,3 $\pm$ 20,9
60'/80'	133,7 $\pm$ 10,6	235,8 $\pm$ 20,9
Gesamt	132,8 $\pm$ 5,2	240,1 $\pm$ 10,3

Tabelle 18: Abweichungen von den Ausgangswerten

Phenylbutazon 20,0 mg/kg

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Zeiten	3	66,83	22,28	-
Innerhalb Zeiten	20	1.797,66	89,88	
Gesamt-Varianz	23	1.864,50	81,07	

$$s_x^2 = 3,8705$$

$$\text{BARTLETT-Test: } n = 3; \chi^2 = 4,294$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (F)
20'	- 8,00 $\pm$ 10,26
40'	- 3,83 $\pm$ 10,26
60'	- 5,17 $\pm$ 10,26
80'	- 4,00 $\pm$ 10,26

Tabelle 19: Abweichungen vom Ausgangswert

Phenylbutazon 20,0 mg/kg

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Quadratische Regression	2	174,87	87,44	-
Rest-Abweichung	1	780,30	780,30	3,69
Innerhalb Zeiten	20	4.232,66	211,63	
Gesamt-Varianz	23	5.187,83	225,56	

$$s_{\bar{x}} = 7,2738$$

$$\text{BARTLETT-Test: } n = 3; \chi^2 = 1,411$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (FH)
20'	- 15,50 $\pm$ 19,28
40'	- 30,17 $\pm$ 19,28
60'	- 14,17 $\pm$ 19,28
80'	- 18,50 $\pm$ 19,28

Wirkungs-Integral

$$J (20' - 80') = - 62,62 \pm 20,78$$

Tabelle 20: Vergleich der Ausgangslagen von

Indometacin 5,0 mg/kg und Phenylbutazon 20,0 mg/kg

1. Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	1	0,08	0,08	-
Innerhalb Versuchsreihen	10	986,16	98,62	
Gesamt-Varianz	11	986,24	89,66	

BARTLETT-Test: $n = 1$; $x^2 = 0,005$

$s_{\bar{x}} = 4,0541$, $s_g = 2,8667$

2. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	1	1.008,33	1.008,33	3,57
Innerhalb Versuchsreihen	10	2.822,66	282,27	
Gesamt-Varianz	11	3.830,99	348,27	

BARTLETT-Test: $n = 1$; $x^2 = 2,269$

$s_{\bar{x}} = 6,8589$, $s_g = 4,8500$

3. Arithmetische Mittel

V-Reihe	$\bar{x}$ (F)	$\bar{x}$ (FH)
20'/40'	125,7 $\pm$ 12,8	243,7 $\pm$ 21,6
60'/80'	125,8 $\pm$ 12,8	225,3 $\pm$ 21,6
Gesamt	125,75 $\pm$ 6,3	234,5 $\pm$ 10,7

Tabelle 21: Abweichungen von den Ausgangswerten

Indometacin 5,0 mg/kg und Phenylbutazon 20,0 mg/kg

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Zeiten	3	173,79	57,93	1,32
Innerhalb Zeiten	20	877,16	43,86	
Gesamt-Varianz	23	1.050,96	45,69	

$$s_x^2 = 2,7036$$

$$\text{BARTLETT-Test: } n = 3; \chi^2 = 0,801$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (F)
20'	- 6,83 $\pm$ 7,16
40'	- 4,83 $\pm$ 7,16
60'	- 5,00 $\pm$ 7,16
80'	-11,50 $\pm$ 7,16

Tabelle 22: Abweichungen vom Ausgangswert

Indometacin 5,0 mg/kg und Phenylbutazon 20,0 mg/kg

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Quadratische Regression	2	382,05	191,03	-
Rest-Abweichung	1	2,41	2,41	-
Innerhalb Zeiten	20	9.170,16	458,51	
Gesamt-Varianz	23	9.554,62	415,42	

$$s_x^2 = 10,7064$$

$$\text{BARTLETT-Test: } n = 3; \quad x^2 = 5,964$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (FH)
20'	- 20,67 $\pm$ 28,37
40'	- 29,83 $\pm$ 28,37
60'	- 31,00 $\pm$ 28,37
80'	- 27,00 $\pm$ 28,37

Wirkungs-Integral

$$J(20' - 80') = - 86,31 \pm 30,58$$

Tabelle 23: Vergleich der Ausgangslagen von
Prednisolon 25,0 mg/kg

1. Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	2	665,33	332,67	8,15
Innerhalb Versuchsreihen	15	612,66	40,84	
Gesamt-Varianz	17	1.277,99	75,18	

BARTLETT-Test: $n = 2$; $x^2 = 2,497$

$s_x^2 = 2,6091$, $s_g^2 = 1,5064$

2. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	2	2.033,33	1.016,67	5,79
Innerhalb Versuchsreihen	15	2.633,16	175,54	
Gesamt-Varianz	17	4.666,49	274,50	

BARTLETT-Test: $n = 2$; $x^2 = 6,563$

$s_x^2 = 5,4090$, $s_g^2 = 3,1229$

3. Arithmetische Mittel

V-Reihe	$\bar{x}$ (F)	$\bar{x}$ (FH)
5'/10'	127,0 $\pm$ 9,6	206,5 $\pm$ 19,9
20'/40'	116,3 $\pm$ 9,6	204,8 $\pm$ 19,9
60'/80'	130,7 $\pm$ 9,6	228,2 $\pm$ 19,9
Gesamt	124,7 $\pm$ 3,2	213,2 $\pm$ 6,6

Tabelle 24: Abweichungen von den Ausgangswerten

Prednisolon 25,0 mg/kg

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Zeiten	5	236,81	47,36	1,17
Innerhalb Zeiten	30	1.215,49	40,52	
Gesamt-Varianz	35	1.452,31	41,49	

$$s_{\bar{x}}^2 = 2,5986$$

BARTLETT-Test: $n = 5$; $\chi^2 = 5,287$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (F)
5'	- 2,83 $\pm$ 7,07
10'	- 4,50 $\pm$ 7,07
20'	3,83 $\pm$ 7,07
40'	- 0,50 $\pm$ 7,07
60'	- 0,50 $\pm$ 7,07
80'	- 0,67 $\pm$ 7,07

Tabelle 25: Abweichungen vom Ausgangswert

Prednisolon 25,0 mg/kg

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen 5' und 10'	1	60,75	60,75	-
Zwischen Zeitabschnitten	1	98,00	98,00	-
Quadr. Regression 20' - 80'	2	96,00	48,00	-
Rest-Abweichung	1	40,83	40,83	-
Innerhalb Zeiten	30	5.001,15	166,71	
Gesamt-Varianz	35	5.296,73	151,34	

$$s_{\bar{x}}^2 = 5,2711$$

$$\text{BARTLETT-Test: } n = 5; \quad x^2 = 10,862$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (FH)
5'	0,33 $\pm$ 14,34
10'	- 4,17 $\pm$ 14,34
20'	- 8,00 $\pm$ 14,34
40'	- 1,67 $\pm$ 14,34
60'	- 5,17 $\pm$ 14,34
80'	- 6,83 $\pm$ 14,34

Wirkungs-Integral

$$J (20' - 80') = - 13,25 \pm 18,05$$

Tabelle 26: Vergleich der Ausgangslagen von

Indometacin 5,0 mg/kg und Prednisolon 25,0 mg/kg

1. Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	2	1.170,11	585,06	6,15
Innerhalb Versuchsreihen	15	1.426,83	95,12	
Gesamt-Varianz	17	2.596,94	152,76	

BARTLETT-Test: $n = 2$; $x^2 = 3,235$

$s_x^2 = 3,9817$, $s_g^2 = 2,2988$

2. Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Versuchsreihen	2	5.818,78	2.909,39	11,57
Innerhalb Versuchsreihen	15	3.770,99	251,40	
Gesamt-Varianz	17	9.589,77	564,10	

BARTLETT-Test: $n = 2$; $x^2 = 2,353$

$s_x^2 = 6,4730$, $s_g^2 = 3,7372$

3. Arithmetische Mittel

V-Reihe	$\bar{x}$ (F)	$\bar{x}$ (FH)
5'/10'	123,8 $\pm$ 14,6	211,8 $\pm$ 23,8
20'/40'	119,0 $\pm$ 14,6	219,3 $\pm$ 23,8
60'/80'	138,0 $\pm$ 14,6	253,2 $\pm$ 23,8
Gesamt	126,9 $\pm$ 4,9	228,1 $\pm$ 7,9

Tabelle 27: Abweichungen von den Ausgangswerten

Indometacin 5,0 mg/kg und Prednisolon 25,0 mg/kg

Farbstoff-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen Zeiten	5	172,25	34,45	-
Innerhalb Zeiten	30	1.680,48	56,02	
Gesamt-Varianz	35	1.852,75	52,94	

$$s_{\bar{x}}^2 = 3,0555$$

$$\text{BARTLETT-Test: } n = 5; \chi^2 = 2,479$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x} (f)$
5'	- 4,17 $\pm$ 8,31
10'	- 3,33 $\pm$ 8,31
20'	- 4,67 $\pm$ 8,31
40'	0,83 $\pm$ 8,31
60'	0,67 $\pm$ 8,31
80'	- 1,83 $\pm$ 8,31

Tabelle 28: Abweichungen vom Ausgangswert

Indometacin 5,0 mg/kg und Prednisolon 25,0 mg/kg

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Varianz-Komponente	n	SAQ	MAQ	f
Zwischen 5' und 10'	1	1.160,33	1.160,33	3,80
Zwischen Zeitabschnitten	1	5.117,35	5.117,35	16,77
Quadr. Regression 20' - 80'	2	3.098,39	1.549,20	5,08
Rest-Abweichung	1	1.740,40	1.740,40	5,70
Innerhalb Zeiten	30	9.157,15	305,24	
Gesamt-Varianz	35	20.273,62	579,25	

$$s_x^2 = 7,1325$$

$$\text{BARTLETT-Test: } n = 5; \chi^2 = 5,821$$

Arithmetische Mittel der Abweichungen

Zeit	$\bar{x}$ (FH)
5'	- 3,50 $\pm$ 19,40
10'	- 23,17 $\pm$ 19,40
20'	- 25,33 $\pm$ 19,40
40'	- 24,33 $\pm$ 19,40
60'	- 57,17 $\pm$ 19,40
80'	- 47,67 $\pm$ 19,40

Wirkungs-Integral

$$J (20' - 80') = - 119,06 \pm 24,43$$

Dikussion

Die Schwellendosis, d.h. die Dosis, die gerade keine sichere Hemmwirkung auf die Farbstoff-Hyaluronidase-Ausbreitung mehr zeigt, wurde von MATHIES (13) für Phenylbutazon mit 10,0 mg/kg i.p. angegeben. Kombiniert wurde diese Dosierung mit 5,0 mg/kg Indometacin (SCHÜRNBRAND (34)). Bei Versuchszeiten von 20 und 40 Min. ergab sich keine signifikante Hemmung; erst bei 60 und 80 Min. wurde das Spreading etwas gehemmt. Der Effekt war zwar bei einzelnen Tieren eindeutig (Tab. 3), liegt aber im Mittelwert der Versuchsreihe statistisch noch innerhalb der Fehlerbreite.

Da die bei MATHIES (13) angegebene Schwellendosis von Phenylbutazon statistisch nicht gesichert werden konnte und der Abstand zur nächsthöheren untersuchten Dosierung, bei der eine Hemmung bereits deutlich auftrat, in der genannten Arbeit mit 50,0 mg/kg das 5-fache betrug, wurde eine Versuchsreihe mit Phenylbutazon in einer Dosierung von 20,0 mg/kg durchgeführt. Das Ergebnis zeigt Tab. 4 und 5 und die graph. Darst. I. Es liegt eine mäßige Hemmung des Hyaluronidase-Spreadings vor. Die Dosis von 20,0 mg/kg kann als Schwellendosis angesehen werden. Die Mittelwertdifferenzen zu den verschiedenen Zeiten liegen ziemlich gleichmäßig um 20 mm^2 und außerhalb der Fehlergrenze; statistisch wird diese Hemmung für den Zeitpunkt 40 Min. gesichert.

Diese Dosis von 20,0 mg/kg Phenylbutazon wurde nun als Schwellendosis mit der von Indometacin (5,0 mg/kg) kombiniert. Es zeigte sich bei 20 Min. eine Hemmung, die nach 40 Min. noch verstärkt auftrat, nach 60 Min. gleich blieb und nach 80 Min. etwas nachließ (graph. Darst. I). Diese statistisch gesicherte Hemmung lag dabei etwas über derjenigen, die bei alleiniger Gabe der gleichen Dosierung von Phenylbutazon beobachtet wurde.

Das zeigt, daß sich die Grenzdosen von Indometacin und Phenylbutazon gleichzeitig in Kombination i.p. gegeben, wenn auch nur mäßig, so doch deutlich synergistisch beeinflussen. Der Effekt ist ebenso groß wie bei alleiniger Gabe von 75,0 mg/kg Phenylbutazon (13).

Bei der Versuchsgruppe mit 25,0 mg/kg Prednisolon (Reihe 7 mit 9) ergab sich keine signifikante Hemmung des Hyaluronidas-Spreadings; die Werte liegen gleichmäßig in der Fehlerbreite. In der Kombination dieser Dosis mit der Schwellendosis von Indometacin (5,0 mg/kg) zeigt sich im Spreading-Test eine enorme Hemmwirkung, die statistisch in der Größenordnung derjenigen der alleinigen Applikation von 100,0 mg/kg Indometacin lag (34). Der Wirkungseintritt zeigt sich nach 10 Min. mit einer mittleren Hemmung, die noch bis zu 40 Min. anhält, und dann tritt bei 60 Min. eine sehr starke Hemmung ein, die aber in den nächsten 20 Minuten wieder etwas nachläßt. Bei BOSILJANOFF (2) findet sich für Prednisolon 25,0 mg/kg i.v. ein ähnlicher Effekt schon nach 45 Minuten.

Dieses späte Wirkungsmaximum bei Gabe von 5,0 mg/kg Indometacin und 25,0 mg/kg Prednisolon in Kombination kann auf einer unterschiedlichen Resorption der beiden Stoffe beruhen. Das heißt, daß der erste signifikante Wirkungseintritt der Hemmung nach 10 Min. durch eine Indometacinwirkung, verstärkt durch Prednisolon, zu erklären ist; während das Maximum bei 60 Min. durch die gegenseitige Potenzierung ausgelöst wird.

Zusammenfassung

Mit dem Hyaluronidase-Spreading-Test an männlichen weißen Ratten wurde die Kombinationswirkung der Schwellendosen, d.h. der Dosen, die das Hyaluronidase-Spreading gerade noch oder nicht mehr zu hemmen vermögen, von Indometacin und Phenylbutazon untersucht. Es ergab sich eine mäßige, statistisch gesicherte, synergistische Wirkung in Bezug auf die Hemmung der Hyaluronidaseaktivität. Bei der Untersuchung der Kombination Indometacin und Prednisolon, in Dosen, die bei intraperitonealer Injektion dieser Mittel für sich allein keine statistisch zu fassende Hemmung mehr zeigten, ergab sich ein Initialeffekt mit einem anschließenden ausgeprägten Wirkungsmaximum. Zur Diskussion steht die Ursache dieses späten Wirkungsmaximums.

Literatureangaben

- 1) ARNOLD, J.: Diss. München 1965
- 2) BOSILJANOFF, A.: Diss. München 1964
- 3) DOMENJÓZ, R.: Arch. exper. Path. u. Pharmacol., 225, 14
 (1955)
- 4) EPPINGER, H.: Klinik u. Pathologie der Permeabilitäts-
 störungen; Springer Verlag, Wien 1944
- 5) EPSTEIN, E. L. u. GREENSPAN, E. B.:
 Arch. int. Med., Chicago (1941)
- 6) ERHARD, W.: Diss. München in Vorbereitung
- 7) GIBIAN, H.: Angew. Chemie 63, 105 (1951)
- 8) HOLLMANN, W.: Heilkunst 66, 293 (1953)
- 9) JUNG, M.: Diss. München 1960
- 10) KROTT, H.: Diss. München 1960
- 11) MADINAVEITIA, J.: Biochem. J. 33, 347 (1939)
- 12) MATHIES, H.: Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
- 13) MATHIES, H.: Arzneimittelforsch. 13, 805 - 809 (1963)
- 14) MATHIES, H.: Zschr. ges. exp. Med. 131, 118 - 130 (1958)
- 15) MATHIES, H.: Zschr. Rheumaforsch. 18, 205 u. 308 (1959)
- 16) MATHIES, H.: Pharmazie 14, 429 (1959)
- 17) MATHIES, H.: Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (1960)
- 18) MATHIES, H.: Planta Medica 2, 129 u. 148 (1954)
- 19) MATHIES, H.: Hippokrates 23, 617 (1952)
- 20) MATHIES, H. NAUNYN-SCHMIEDEBERGS Archiv:
 Vide Arch. exp. Path. Pharmak. 240, 31
 (1960)
- 21) MATHIES, H., BATISWEILER, I., KREISELMEIER, G. u. WILL, E.:
 Arzneimittelforsch. 10, 484 (1960)
- 22) MATHIES, H., BIECHELE, I. u. HARTMANN, M.:
 Ärztl. Forsch. 14, 160 (1960)
- 23) MATHIES, H. u. GAREISSEN, G.:
 Med. Klin. 5, 190 (1960)
- 24) MATHIES, H., GLÜCK, A., POULANTZAS, J. u. SCHMIDT, D.:
 Med. Exp. 1, 64 (1959)

- 25) MATHIES, H. u. JANKOWSKI, A.:
Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
- 26) MATHIES, H. u. SCHLIERF, G.:
Med. ex. 2, 333 (1960)
- 27) MATHIES, H. u. v. WERTHER, G.:
Arzneimittelforsch. 9, 576 (1959)
- 28) MATHIES, H. u. v. WERTHER, G.:
Zschr. f. angew. Bäder- u. Klimahk. 5, 503
(1958)
- 29) MATHIES, H., KROHN, R. u. WERNER, B.:
Med. Klinik, 60, 46, 1863 - 68 (1965)
- 30) MERK, SHARP and DOHME Research Laboratories, West Point,
Pa (USA), Unveröffentlichter Bericht
- 31) OSTERBURG, J.: Diss. München in Vorbereitung
- 32) RATSCHOW, M.: Ther. Gegenw. 90, 129 (1951)
- 33) SCHUEN, R.: G. Fortbildungskurs f. ärztl. Fortb.,
Regensburg Okt. 1952,
Dtsch. med. Wschr. 77, 558 (1952)
- 34) SCHÜRNBRAND, I.: Diss. München in Vorbereitung
- 35) SLAUACK, A.: Medizinische 1447 (1952)
- 36) WILHELMI, G.: zit. DOMENJOZ, R.:
Arch. exp. Path. u. Pharmacol. 225, 14
(1955)
- 37) WINTER, C. A., RISLEY, E. A. u. NUSS, G. W.:
J. Pharmacol. exp. Ther. 141, 369 (1963)

An dieser Stelle möchte ich Herrn Professor Dr. Seitz für die Arbeitsmöglichkeit an seiner Klinik danken.

Herrn Priv.-Doz. Dr. Mathies bin ich für die Überlassung des Themas und für die freundliche Unterstützung bei der Gestaltung zu besonderem Dank verpflichtet.

Herrn Dipl. Math. Liebrich sage ich Dank für die Durchführung der statistischen Berechnungen.

Lebenslauf

Ich, Klaus-Peter Korsch, wurde am 25. Januar 1941 als Sohn des Lungenfacharztes Dr. med. Karl-Heinz Korsch und seiner Ehefrau Ilse Korsch - geb. Melches - in Bad Polzin (Pom.) geboren. Mein Vater starb am 11. Juni 1948.

Im April 1948 trat ich in die Volksschule in Wolfenbüttel (Niedersachsen) ein und beendete diese Schulzeit in Dillingen-Donau im Juli 1951. Im September 1951 trat ich in die Oberrealschule in Dillingen ein. Die Reifeprüfung bestand ich im Juli 1960 in Günzburg.

Zum Wintersemester 1960/61 immatrikulierte ich mich in Erlangen an der medizinischen Fakultät. Dort bestand ich im Sommer 1961 die naturwissenschaftliche Vorprüfung. Zum Wintersemester 1961/62 immatrikulierte ich mich an der medizinischen Fakultät der Universität München. Hier bestand ich im Juli 1963 die ärztliche Vorprüfung. Das klinische Studium machte ich in München, bis auf das Sommersemester 1964, das ich als Austauschstudent an der Freien Universität Berlin studierte. Im Frühjahr 1965 erhielt ich an der Poliklinik München ein Thema für meine Dissertationsarbeit. Am 22. Dezember 1966 bestand ich das ärztliche Staatsexamen an der Universität München.

